

## **Evaluating the sensitivity and specificity of total and free sialic acid levels for the diagnosis of bladder cancer and its relation to the stage and grade of tumor malignancy**

**Habibi Sh<sup>1</sup>, Djalali M<sup>1\*</sup>, Jamshidian H<sup>2</sup>, Eshraghian MR<sup>3</sup>, Saboor-Yaraghi AA<sup>1</sup>, Zareie M<sup>1</sup>**

1- Department of Nutrition and Biochemistry, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

2- Department of Urology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

3- Department of Epidemiology and Biostatistics, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

Received December 7, 2009; Accepted June 19, 2011

### **Abstract:**

**Background:** Bladder cancer is the second most common urological malignancy. Cystoscopy is the “gold standard” for the detection of bladder cancer, but is invasive and relatively expensive. This study aimed to investigate the sensitivity and specificity of serum levels of free and total sialic acids as tumor markers in the diagnosis of bladder cancer.

**Materials and Methods:** In this study, the diagnostic value of blood samples collected from 58 patients with bladder cancer and 60 normal subjects were evaluated. The spectrophotometrical Aminoff's method was used for measuring serum levels of free and total sialic acids. After comparing the mean values for the mentioned parameters, ROC curve was used to calculate the sensitivity and specificity and other diagnostic values of markers.

**Results:** The mean values for total sialic acid and free sialic acid were higher in cancer patients than in normal healthy controls ( $P<0.001$ ). The sensitivity and specificity of total sialic acid at the cut-off point of 48.75 mg/dL were 91% and 82%, respectively and also the sensitivity and specificity of free sialic acid at the cut-off point of 0.708 mg/dL were 81% and 80%, respectively. Moreover, a positive correlation was seen between the serum levels of total, free sialic acids and stage or grade of the tumor.

**Conclusion:** Our results revealed that the measurement of serum levels of these parameters using some simple, non-invasive, inexpensive, and reproducible tests can diagnose the bladder cancer and provide important clinical findings on the extent of the malignancy and also reduce the number of cystoscopies.

**Keywords:** Urinary bladder cancer, Sialic acid, Tumor markers

**\* Corresponding Author**

**Email:** jalalimahmoud@hotmail.com

**Tel:** 0098 21 889 54911

**Fax:** 0098 21 889 54911

**Conflict of Interests: No**

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, Winter, 2012; Vol. 15, No 4, Pages 338-344*

**Please cite this article as:** Habibi Sh, Djalali M, Jamshidian H, Eshraghian MR, Saboor-Yaraghi AA, Zareie M. Evaluating the sensitivity and specificity of total and free sialic acid levels for the diagnosis of bladder cancer and its relation to the stage and grade of tumor malignancy. *Feyz* 2012; 15(4); 338-44.

# بررسی حساسیت و ویژگی سطوح سرمی سیالیک اسیدهای توtal و آزاد در تشخیص سرطان مثانه و ارتباط آنها با درجه و مرحله بدخیمی تومور

شیما حبیبی<sup>۱</sup>، محمود جلالی<sup>۲</sup>، حسن جمشیدیان<sup>۳</sup>، محمدرضا اشراقیان<sup>۴</sup>، علی‌اکبر صبور برآقی<sup>۵</sup>، مهناز زارعی<sup>۶</sup>

## خلاصه

**سابقه و هدف:** سرطان مثانه دومین بدخیمی شایع دستگاه ادراری است. استاندارد طلایی تشخیص سرطان مثانه در حال حاضر سیستو-سکوپی است که روشی گران‌قیمت و تهاجمی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی حساسیت و ویژگی سطوح سرمی سیالیک اسیدهای توtal و آزاد به عنوان تومور مارکر در تشخیص سرطان مثانه می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه ارزش تشخیصی نمونه خون از ۵۸ فرد مبتلا به سرطان مثانه و ۶۰ فرد سالم اخذ شد. سطح سرمی سیالیک اسیدهای توtal و آزاد با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری آمیوف اندازه‌گیری شدند. میانگین داده‌های حاصل با یکدیگر مقایسه و حساسیت و ویژگی و سایر شاخص‌های ارزش تشخیصی آنها با استفاده از نمودار ROC محاسبه شد.

**نتایج:** میانگین سطوح سرمی سیالیک اسیدهای توtal و آزاد در مبتلایان به سرطان مثانه در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود ( $P<0.001$ ). حساسیت و ویژگی سیالیک اسید توtal در نقطه برش  $48/75 \text{ mg/dL}$  بهترین  $91\%$  و  $82\%$  درصد و برای سیالیک اسید آزاد در نقطه برش  $70/80 \text{ mg/dL}$  بهترین  $81\%$  و  $80\%$  درصد بدست آمد. همچنین، ارتباط مثبت بین افزایش سطوح سرمی سیالیک اسیدهای توtal و آزاد با پیشرفت مرحله و درجه تومور مشاهده شد.

**نتیجه گیری:** نتایج ما نشان داد که اندازه‌گیری سطوح سرمی این فاکتورها با استفاده از تست‌های سرمی غیرتھاجمی، ارزان‌قیمت، ساده و قابل تکرار می‌تواند با تشخیص سرطان مثانه، اطلاعات بالینی با ارزشی در مورد وضعیت بیماری و وسعت بدخیمی در اختیار قرار داده و سبب کاهش سیستو-سکوپی‌های غیر ضروری شود.

**وازگان کلیدی:** سرطان مثانه، سیالیک اسید، شناساگر تومور

فصلنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره پانزدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۰، صفحات ۳۴۴-۳۳۸

تشخیص و مرحله‌بندی اولیه سرطان‌های مثانه سیستو-سکوپی و Trans Urethral Resection؛ رزکسیون از راه پیشاپراه (TUR) می‌باشد که استاندارد طلایی برای تشخیص سرطان مثانه بوده و حساسیتی معادل ۷۳ درصد دارد، اما روش تھاجمی و گران‌قیمت محسوب می‌شود [۲]. از این‌رو غربالگری و پی‌گیری وضعیت بدخیمی مبتلایان به سرطان مثانه با استفاده از تست‌های سرمی از جنبه‌های مختلف از جمله باصره بودن از لحاظ اقتصادی، غیرتھاجمی بودن و تسهیل تکرار نمونه‌گیری بسیار اهمیت دارد [۳]. خصوصیات سطح سلول‌های در طی بیماری سرطان تغییر می‌کند. مطالعه تغییرات بیوشیمیابی صورت گرفته در طول فرایند بدخیمی نوعی بیوپسی شیمیابی محسوب می‌شود که تشخیص ناهمجارتی‌های یک اندام را بسیار تسهیل می‌کند [۴] یکی از این تغییرات مهم در طول فرایند بدخیمی، تغییر در گلیکو-زیلاسیون گلیکوکونزوگهای سطح سلول‌ها است که از مراحل آغازین تومورزایی شروع شده و در طول فرایند سرطان نیز ادامه پیدا می‌کند [۵]. سیالیک اسید از مشتقان ان- استیل نورآمینیک اسید می‌باشد که در انتهای زنجیره کربوهیدراتی بسیاری از گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدهای سطح سلول قرار دارد [۶]. وجود

## مقدمه

سرطان یک مشکل گسترده پزشکی در سلامت عمومی جامعه است و پس از بیماری‌های قلبی عروقی دومین عامل مرگ و میر محسوب می‌شود. بر اساس آمارهای مربوطه سرطان مثانه چهارمین سرطان شایع در مردان و نهمین سرطان شایع در زنان است [۱].

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۲</sup> استاد، گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۳</sup> دانشیار، گروه ارتوپلزی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۴</sup> استاد، گروه آمار و اپیدیوپلزی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۵</sup> دانشیار، گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۶</sup> کارشناس علوم آزمایشگاهی، گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

\***لشکر نویسنده مسئول:**

تهران، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه تغذیه و بیوشیمی

تلفن: ۰۲۱ ۸۸۹۵۴۹۱۱، دوبلویس: ۰۲۱ ۸۸۹۵۴۹۱۱

پست الکترونیک: jalalimahmoud@hotmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۰/۳/۲۹، تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۱۶

محتوى سialiک اسيد نمونه‌های سرم با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری آمينوف و با اندکی تغيير اندازه‌گيري شدن [۱۰،۹]. برای اندازه‌گيري سialiک اسيد آزاد  $100\text{ mL}$  سرم با  $1\text{ mL}$  پريوديك اسيد  $0.025\text{ g}$  نرمال در  $37^\circ\text{C}$  بهمدت  $30$  دقيقه انکوبه شد. سپس، جهت متوقف کردن واکنش  $200\text{ mL}$  از محلول  $2$  درصد سديم آرسينيت در  $\text{HCl}$  نيم نرمال به مواد واکنش اضافه شد. بهمحض ناپديد شدن رنگ زرد ايجاد شده  $1-2$  دقيقه بعد)  $1\text{ mL}$  از محلول  $1$  مولار تيوباريتوريك اسيد که  $\text{pH}$  آن با  $\text{NaOH}$  به  $9$  رسيده بود، افزوده شد. پس از قرار دادن لوله‌های آزمایش در حمام آب جوش بهمدت  $7/5$  دقيقه آنها را سرد کرده و برای پايدار شدن رنگ صورتی حاصله،  $1/5$  ملي ليتر از محلول  $\text{DMSO}$  (دي متيل سولفوكسайд) افزوده شد، سپس لوله‌ها را  $5$  دقيقه با  $2500\text{ g}$  در سانتريفوژ گذاشته و پس از آن جذب با کوت کوارتنز در  $549$  نانومتر خوانده شد. اعداد خوانده شده روی منحنی استاندارد برده شدن. جهت تهييه منحنی استاندارد غلظت‌های  $0/5$ ،  $1/2$ ، و  $4$  ميكروگرم بر ملي ليتر از سialiک اسيد خالص ( $\sigma$ ) (sigma)، ابتدا برای تهييه شده و مراحل بالا تكرار شد. برای محاسبه  $\text{TSA}$ ، هيدروليزي سialiک اسيد باند شده به پروتين‌ها و ليبيدها به  $100\text{ mL}$  سرم، همين مقدار اسيد سولفوريك  $1$  نرمال افزوده شده و بهمدت  $1$  ساعت در درجه  $80$  درجه سانتي‌گراد قرار داده شد. پروتين‌ها با افزودن  $1/5$  ملي ليتر محلول  $\text{TCA}$   $10$  درصد رسوب‌گيري و لوله‌ها بهمدت  $10$  دقيقه در  $3500\text{ g}$  سانتريفوژ شدن. کار با  $100$  مليکوليتير از محلول روئي طبق روش شرح داده شده در بالا دنبال شد.

#### روش تجزيه و تحليل داده‌ها

در اين مطالعه، تجزيه و تحليل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ويرايش  $16$  انجام شد. برای مقايسه ميانگين متغيرها در دو گروه پس از اثبات نرمال بودن توزيع متغيرها Student t-test استفاده شد. همچنين برای مقايسه ميانگين متغيرها در درجات و مراحل مختلف تومور از آزمون Tukey (ANOVA) به همراه پس آزمون  $\text{Tukey}$  استفاده شد. آزمون آماري مجذور کاي نيز جهت مقايسه گروه‌های مورد مطالعه از نظر متغيرهای كيفي سن و جنس مورد استفاده قرار گرفت. از ضريب همبستگي اسپيرمن برای برسی همبستگي متغيرهای کمي با درجه و مرحله تومور استفاده شد. با استفاده از منحنی ROC بهترین نقطه برش تعیین شده و سپس حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری

مقادر زیادي از سialiک اسيد در انتهای گليکوكونزوجه‌های سلول‌های سلطانی به اثبات رسیده است که به فرم گليکوپروتئين و گليکولپید از سلول آزاد می‌شوند [۷]. برسی‌ها نشان داده‌اند که رابطه مشتبه بین سطوح سialiک اسيد آزاد (FSA) و توتال (TSA)، با وسعت بدخيими و خصوصيات تهاجمی سلول‌های سلطانی در تعدادی از سلطان‌ها از جمله سلطان مثانه وجود دارد و لذا از آنها می‌توان به عنوان مارکری در ارزیابی وضعیت و بررسی میزان پیشرفت سلطان استفاده کرد [۸]. هدف ما از انجام این مطالعه پیدا کردن روشی غير تهاجمی و ارزان قیمت جهت تشخيص و پیگیری تومور مثانه است.

#### مواد و روش‌ها

##### گروه‌های مورد مطالعه

مطالعه حاضر با طراحی ارزش تشخيصی روی  $58$  فرد مبتلا به سلطان مثانه و  $60$  فرد سالم از تاريخ مهرماه  $1386$  تا خردادماه  $1388$  در بخش بيوشيمي دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشكى تهران انجام شد. گروه مورد از بين افراد مراجعه کننده به بخش اورولوژي بيمارستان‌های امام خميني (ره)، ميلاد و شهيد لبافی نژاد که پس از سيسنوسکوپي و نمونه برداري، جواب پاتولوژي آنها سلطان مثانه گزارش می‌شد، انتخاب شدند. درجه-بندي و مرحله بندي به ترتيب بر اساس سистем طبقه بندي (ISUP WHO/ World Health Organization /International (Tumor Node و Society of Urological Pathology ) Metastases; TNM) انجام شدند. افراد سالم نيز از بين مراجعه کنندگان به سازمان انتقال خون ايران (در تهران) و نيز بخش بيوشيمي دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشكى تهران انتخاب شدند. اطلاعات مربوط به ابتلا به بيماری‌های ديابت، تيروئيد و بيماری‌های سيسنوميك و نيز مصرف سيگار و الکل و مكملي‌های آنتي اكسيدانسي از قبل ويتامين‌های A, E, D, C برای هر دو گروه که معيارهای خروج از مطالعه بودند با اظهار خود شخص و نيز مرور پرونده بيمار در پرسشنامه مربوطه درج و در جمع آوري نمونه‌ها لحظ شدند. نمونه‌های خون وريدي پس از گرفته شدن به آزمایشگاه گروه منتقل شده و سرم آن با استفاده از سانتريفوژ با دور  $3500\text{ g}$  و بهمدت  $10$  دقيقه جدا شدند. جهت ممانعت از ذوب و فريز مجدد در حجم‌های  $150$  و  $250$  مليکوليتير تقسيم گردیده و تا زمان انجام آزمایش در  $70^\circ\text{C}$  - ذخیره شدند.

##### آزمایشات بيوشيميابي

ترسیم شدند (نمودارهای شماره ۱ و ۲). بر این اساس بهترین نقطه برش (cut-off) و نیز حساسیت و ویژگی برای هر یک از مقادیر سرمی TSA و FSA محاسبه شد (جدول شماره ۴). بهترین نقطه برش (cut-off) در واقع عددی است که دارای بالاترین دقت در تفکیک بیماران مبتلا به سرطان از افراد غیرمبتلا است. این نقطه برای TSA mg/dL ۴۸/۷۵ و برای FSA mg/dL ۷۰/۸ می‌باشد.

سطح زیر نمودار برای TSA و FSA به ترتیب (AUC $\pm$ SD) ۰/۹۱۱ $\pm$ ۰/۰۲۹ و ۰/۸۶۳ $\pm$ ۰/۰۳۸ بود (هرچه این عدد به ۱ نزدیکتر باشد قدرت و دقت تفکیک تست بهتر است) [۱۱]. این نتایج نشان می‌دهند که تقریباً به ترتیب ۹۱ و ۸۷ درصد از بیمارانی که به طور تصادفی از گروه مثبت (بیمار) انتخاب شوند، سطح TSA و بالاتر از گروه منفی (سالم) خواهند داشت.

جدول شماره ۱- توزیع مبتلایان به سرطان مثانه بر اساس درجه و مرحله پاتولوژیکی تومور

Stage(n)	Grade(n)		
	G1(n) (درصد)	G2(n) (درصد)	G3(n) (درصد)
Ta	۴(۶/۸۹)	۴(۷/۸۹)	۱(۱/۷۲)
T1	۴(۶/۸۹)	۱۷(۲۹/۳۱)	۳(۵/۱۷)
T2	۲(۳/۴۴)	۴(۷/۸۹)	۱۰(۱۷/۲۴)
T3	-	۱(۱/۷۲)	۳(۵/۱۷)
T4	-	-	۵(۸/۶۲)
مجموع=۵۸	۱۰(۱۷/۲۴)	۲۶(۴۴/۸۲)	۲۲(۳۷/۹۳)
(۱۰۰)			

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین سطوح TSA و FSA در دو گروه بیمار و سالم

TSA (mg/dl)	FSA (mg/dl)	گروه
$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	
۵۹/۱۶ $\pm$ ۷/۶۹	۰/۸۴ $\pm$ ۰/۱۱۳	بیمار
۴۴/۹۲ $\pm$ ۷/۰۸	۰/۴۶ $\pm$ ۰/۲۵	سالم
P<۰/۰۰۱	P<۰/۰۰۱	P

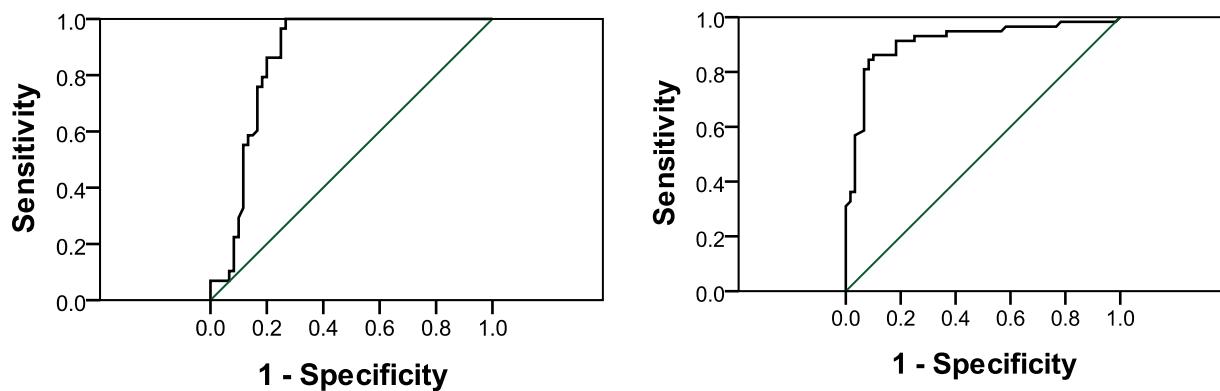
جدول شماره ۳- سطوح سرمی مارکرهای TSA و FSA در درجات و مراحل مختلف تومور و تعداد موارد افزایش یافته آنها

FSA	TSA			هیستوپاتولوژی بیمار
	مثبت (mg/dl ۰/۷۰ $<$ n)	$\bar{X} \pm SD$	مثبت (mg/dl ۴۸/۷۵ $<$ n)	
۷/۱۰	۰/۷۲۲ $\pm$ ۰/۰۲۳	۶/۱۰	۵۲/۰۷ $\pm$ ۲/۳۵	G1
۲۳/۲۶	۰/۸۳۹ $\pm$ ۰/۰۲۲	۲۴/۲۶	۵۸/۲۵ $\pm$ ۱/۳۷	G2
۲۲/۲۲	۰/۸۶۹ $\pm$ ۰/۰۲۱	۲۲/۲۲	۶۳/۴۶ $\pm$ ۱/۲۴	G3
۲۸/۳۳	۰/۷۹۹ $\pm$ ۰/۰۲۸	۲۹/۳۳	۵۶/۰۹ $\pm$ ۱/۱۳	Ta+T1
۱۵/۱۶	۰/۷۶۷ $\pm$ ۰/۰۱۸	۱۶/۱۶	۶۱/۴۹ $\pm$ ۱/۳۴	T2
۸/۹	۰/۸۸۸ $\pm$ ۰/۰۴۲	۸/۹	۶۲/۵۶ $\pm$ ۰/۲۷	T3+T4

مثبت و منفی و نیز کارایی تست‌های مورد نظر تعیین شدند.  
 $P < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

دو گروه از لحاظ سن و جنس با هم جور شدند: به طوری که در گروه بیمار ۴۷ مرد و ۱۱ زن با میانگین سنی ۶۲/۵۳ $\pm$ ۱۲/۵۲ سال و در گروه سالم ۵۲ مرد و ۸ زن با میانگین سنی ۵۹/۴۷ $\pm$ ۶/۱۹ سال قرار گرفتند (در مورد سن  $P = 0/093$  و در مورد جنس  $P = 0/405$ ). نتایج مربوط به توزیع بیماران بر اساس مرحله و درجه تومور در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود میانگین سطوح سیالیک اسیدهای توتال و آزاد در دو گروه بیمار و سالم اختلاف آماری معنی دار ( $P < 0/001$ ) نشان می‌دهد. بر اساس جدول شماره ۳ در مورد TSA اختلاف آماری معنی دار بین G1 با G2 و G3 در هر سه مورد  $P < 0/05$  و نیز مرحله سطحی تومور (Ta+T1) با مرحله متوسط تومور (T2) ( $P < 0/05$ ) وجود دارد. در مورد FSA نیز اختلاف‌های آماری معنی دار بین G1 با G2، G3 با G1 ( $P < 0/05$ ) و نیز مرحله سطحی تومور (Ta+T1) با مرحله متوسط تومور (T2) ( $P < 0/05$ ) ملاحظه می‌شود. جهت بررسی ارتباط بین تغییر سطح TSA و FSA با درجه و مرحله بدین‌حیمی تومور ضریب همبستگی اسپرمن محاسبه شد. به موازات افزایش وسعت بدین‌حیمی سطوح سرمی TSA و FSA افزایش پیدا کردند، به طوری که ارتباط مثبت بین سطوح سرمی TSA با پیشرفت مرحله تومور ( $I = ۰/۴۸۱$  و  $P < 0/01$ ) و درجه تومور ( $I = ۰/۵۵$  و  $P < 0/01$ ) و نیز بین FSA با پیشرفت مرحله تومور ( $I = ۰/۳۱۷$  و  $P < 0/01$ ) و درجه تومور ( $I = ۰/۴۰۱$  و  $P < 0/01$ ) مشاهده شد. به‌منظور تعیین حساسیت و ویژگی سطوح سرمی TSA و FSA در تشخیص سرطان مثانه نمودارهای ROC



نمودار شماره ۲- رسیم منحنی سیالیک اسید آزاد. ناحیه زیر منحنی  $0.863 \pm 0.038$  (ROC)، و سطح نقطه برش ایده‌آل  $0.708 \text{ mg/dL}$  می‌باشد.

نمودار شماره ۱- ترسیم منحنی سیالیک اسید توتال. ناحیه زیر منحنی  $0.911 \pm 0.029$  (ROC)، و سطح نقطه برش ایده‌آل  $0.4875 \text{ mg/dL}$  می‌باشد.

جدول شماره ۴- حساسیت و ویژگی TSA و FSA

نیازگر تومور	حساسیت	ویژگی	مثبت (PPV)	ارزش اخباری (NPV)	دقت	نقطه برش (mg/dL)	سطح زیر نمودار انحراف معیار (AUC)
TSA	%91	%82	%80	%80	%86	4875	$0.911 \pm 0.029$
FSA	%81	%80	%78	%78	%82	0.708	$0.863 \pm 0.038$

افزایش بیشتر در مراحل و درجات پیشرفته تر بیماری گزارش شد که در این مورد نتیجه ما مشابه ایشان است [۱۲]. Erbil و همکاران همانند ما افزایش معنی دار TSA در مبتلایان به سرطان مثانه در مقایسه با گروه کنترل را مشاهده کردند. در این مطالعه با استفاده از روش HPLC و نقطه برش  $31 \text{ mg/dL}$  حساسیت TSA ۶۵ درصد و ویژگی آن  $87/5$  درصد گزارش شد. در مطالعه ما حساسیت بیشتر و ویژگی کمتر بوده و نیز پارامترهای دقت و ارزش اخباری مثبت و منفی بیشتر به دست آمد. در مطالعه ایشان کارایی تست TSA  $77/3$  درصد و ارزش اخباری مثبت و منفی به ترتیب  $81/2$  و  $75$  درصد گزارش شد [۱۳]. در بررسی میزان حساسیت و ویژگی FSA در تشخیص سرطان مثانه گزارشی منتشر شده است. مشخص گردیده است که ترکیب کربوهیدراتی گلیکوپروتئین ها و گلیکولیپیدهای سطح سلول های سرطانی تغییر می کند. گلیکوزیلاسیون نقش بسیار مهمی در طول فرایند بدخیمی بازی می کند [۱۴]. گلیکوکونزوجه های موجود در سطح سلول در طیف وسیعی از وقایع بیولوژیک از قبیل چسبیدن سلول ها به یکدیگر، شناخته شدن سلول ها توسط یکدیگر، آتشی ژنیتیه و تومور زایی نقش دارند [۱۵]. سیالیک اسیدها از قدرهای انتها بسیار مهم در زنجیر کربوهیدراتی گلیکوپروتئین ها و گلیکولیپید-

## بحث

نتایج پژوهش حاضر افزایش مشخص و معنی دار TSA و FSA در سرم مبتلایان به سرطان مثانه در مقایسه با گروه کنترل را نشان داد. با استفاده از نمودار ROC حساسیت و ویژگی به ترتیب برای TSA ۹۱ درصد و ۸۲ درصد (AUC) و برای FSA ۸۱ درصد و ۸۰ درصد محاسبه شد. ملاحظه می شود که به موازات پیشرفت وسعت بدخیمی (درجه و مرحله تهاجم تومور) مقدار این فاکتورها و نیز تعداد موارد افزایش یافته از سطح نقطه برش بیشتر می شود؛ به طوری که همبستگی مثبت بین درجه و مرحله تومور بدخیم با سطح سرمی TSA و FSA نیز مشاهده می شود. Lagana و همکاران در مطالعه خود به بررسی مقدار TSA و FSA سرم با روش HPLC در بدخیمی های ادراری- تناسلی پرداختند. در مورد سرطان مثانه مطالعه روی ۲۲ فرد بیمار و ۲۰ فرد کنترل انجام شد. بین سطح TSA سرمی تفاوت معنی داری بین گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد که مخالف با نتیجه مطالعه ما در این مورد است. تفاوت در حجم نمونه یا تفاوت در روش اندازه گیری می تواند از دلایل این اختلاف نتیجه باشد. افزایش بسیار مشخص (بیش از سه برابر) FSA ( $P < 0.001$ ) در بیماران نسبت به گروه کنترل و نیز

چشمگیر سطوح آن پس از درمان موقفت آمیز مشاهده شده است [۲۵]. مفیدترین کاربرد یک تست غیرتهاجمی با حساسیت و ویژگی بالا در تشخیص زود هنگام اولیه و پایش عود تومور در مبتلایان به سرطان مثانه است. چنین تستی در ارزیابی پاسخ به درمان و پایش بیماران پس از انجام درمان‌های مناسب نیز می‌تواند مفید واقع شود. به علت احتمال بالای عود تومور این بیماران نیازمند پایش بلندمدت هستند. شیوه استاندارد پیگیری وضعیت بیماری در مبتلایان به سرطان مثانه انجام سیستوسکوپی به فاصله هر ۳ تا ۶ ماه است که روشی تهاجمی، دردناک و پر هزینه است [۲۶]. شاید با مطالعات بیشتر تنها کسانی که سطوح بالایی از این فاکتورها را داشته باشند، تحت سیستوسکوپی و بیوپسی قرار بگیرند تا به این ترتیب از بار هزینه و درد وارد به بیمار کاسته شده و به بیهواد کیفیت زندگی آنها کمک شود.

### نتیجه‌گیری

مقادیر سرمی TSA و FSA از حساسیت و ویژگی خوبی در تشخیص سرطان مثانه برخوردار بودند. بنابراین، بررسی سطح این فاکتورها با استفاده از آزمون‌های سرمی غیر تهاجمی، ارزان، ساده و قابل تکرار، می‌تواند اطلاعات بالینی با ارزشی را در مورد وضعیت بیماری و وسعت بدحیمی در اختیار ما قرار داده و با کاهش سیستوسکوپی‌های غیرضروری از درد و هزینه وارد به بیمار را کاسته کند. با این وجود مطالعات بیشتر و گستردگرتری لازم است تا کاربرد بالینی سنجش سطح سیالیک اسید در سرطان مثانه به درستی شناخته شود.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش بخشی از نتایج پایان نامه کارشناسی ارشد خانم شیما حبیبی می‌باشد که با هزینه طرح تحقیقاتی شماره ۶۶۵۸، مصوب دانشکده بهداشت انجام شده است. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشکده بهداشت و گروه بیوشیمی و تندیه دانشگاه علوم پزشکی تهران و نیز بخش‌های محترم اورولوژی بیمارستان‌های امام خمینی ره، میلاد و شهید لبافی‌نژاد و بیماران و افراد سالمی که برای انجام این طرح ما را یاری کردند، کمال تشکر و امتنان خود را اعلام می‌داریم.

### References:

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2009; 59(4): 225-49.
- [2] Tanagho EA, McAninch WJ. Smith's General

های غشاء سلول و از اجزاء اصلی این ترکیبات هستند. افزایش سطوح سیالیک اسید توtal و آزاد در انواع مختلفی از سرطان‌ها گزارش شده است [۱۶]. افزایش میزان سیالیک اسید، در سرم می-تواند ناشی از افزایش بازچرخش، ترشح یا ریزش آن به داخل جریان خون باشد. هم‌چنین، افزایش فعالیت سیالیل ترانسفراز در سرم مبتلایان به تعدادی از سرطان‌ها مشاهده شده است [۱۷]. به علاوه افزایش میزان سیالیک اسید در ادرار مبتلایان به سرطان مثانه گزارش شده است [۱۸، ۱۹] که در واقع انعکاسی از افزایش تولید این مولکول توسط سلول‌های توموری و نیز افزایش فعالیت آنزیم سیالیل ترانسفراز در بافت‌های توموری است. بررسی میزان سیالیک اسید در بافت‌های اطراف تومور نسبت به بافت‌های سالم اطراف افزایش معنی‌دار آن را در بافت‌های توموری در تعدادی از سرطان‌ها نشان داده است [۲۰]. Konukoğlu مشخص میزان TSA در مبتلایان به سرطان مثانه در پاسخ به درمان را گزارش کردند [۱۸]. هم‌چنین، کاهش مشخص سطوح سرمی FSA و TSA در مبتلایان به سرطان سینه درمان شده توسط Ravel و همکاران [۵] و نیز TSA در مبتلایان به سرطان دهان پس از درمان توسط Rajpura و همکاران [۲۱] ملاحظه شده است. همچنین Ravel و همکاران [۳] کاهش سطح پروتئین‌ها با ریشه‌های انتهایی  $\alpha$ -2-6 سیالیک اسید در سرم مبتلایان به سرطان دهان در پاسخ کامل به درمان نسبت به وضعیت پیش از آن را مشاهده کردند. افزایش  $\alpha$ -2-6 sialylation در گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدهای سطح غشاء باعث تهاجمی تر شدن رفتار سلول‌های سرطانی می‌شود [۲۲]. هیپرسیالیله شدن سلول‌ها با افزایش دادن بار منفی سطح سلول‌های سرطانی منجر به افزایش دافعه سلول‌ها نسبت به یکدیگر و تسهیل جدا شدن سلول‌ها و متابتاز می‌شود. هم‌چنین، در این حالت ظرفیت چسبیدن این سلول به اندولیوم مویرگ که مرحله نخست متابتاز است، افزایش یافته و نیز میزان شناسایی شدن سلول سرطانی توسط سلول‌های سیستم دفاعی میزان و تخریب آنها کاهش می‌یابد [۲۳]. نتایج مطالعه ما تغییر در متابولیسم گلیکوکونزوگه‌ها در سرطان را نشان می‌دهد. بر اساس مطالعات موجود، سطوح بالاتر اشکال مختلف سیالیک اسید با پروگنوز ضعیف بیماری و مقاومت به درمان رابطه دارد [۲۴]. به طوری که در تعدادی از سرطان‌ها از جمله تومور مثانه کاهش

Urology. 6<sup>th</sup> ed. The McGraw-Hill: San Fran cisco-California; 2010.

[3] Raval GN, Patel DD, Parekh LJ, Patel JB, Shah MH, Patel PS. Evaluation of serum sialic acid,

- sialyltransferase and sialoproteins in oral cavity cancer. *Oral Dis* 2003; 9(3): 119-28
- [4] Passaniti A, Hart GW. Cell surface sialylation and tumour cell metastatic potential of B16 melanoma variants correlates with their relative number of specific penultimate with oligosaccharide structure. *J Biol Chem* 1988; 263(16): 7591-603.
- [5] Raval GN, Parekh LJ, Patel DD, Jha FP, Sainger RN, Patel PS. Clinical usefulness of alterations in sialic acid, sialyltransferase and sialoproteins in breast cancer. *J Clin Biochem* 2004; 19(2) 60-71.
- [6] Schauer R. Sialic acids: fascinating sugars in higher animals and man: *Zoology (Jena)* 2004; 107(1): 49-64.
- [7] Gatchev O, Rastam L, Lindberg G, Gullberg B, Eklund GA, Tornberg S. Tumours of the central nervous system and serum sialic acid concentration in men and women. *Br J Cancer* 1993; 68(2): 425-7
- [8] Dall'olio F, Trere D. Expression of alpha 2,6-sialylated sugar chain in normal and neoplastic colon tissues. Detection by digoxigenin conjugated sambucus nigra agglutinin. *Eur J Histochem* 1993; 37(3): 257-65.
- [9] Aminoff D. Methods for the quantitative estimation of N-acetylneurameric acid and their application to hydrolysates of sialomucoids. *Biochem J* 1961; 81: 384-92.
- [10] Surangkul D, Pothacharoen P, Suttajit M, Kongtawelert P. A periodate resorcinol microassay for the quantitation of total sialic acid in human serum. *Chiang Mai Med Bull* 2001; 40: 111-8.
- [11] Kongtawelert P, Tangkijvanich P, Ong-Chai S, Poovorawan Y. Role of serum total sialic acid in differentiating cholangiocarcinoma from hepatocellular carcinoma. *World Gastroenterol* 2003; 9(10): 2178-81.
- [12] Laganà A, Pardo-Martínez B, Marino A, Fago G, Bizzarri M. Determination of serum total lipid and free N-acetylneurameric acid in genitourinary malignancies by fluorimetric high performance liquid chromatography. Relevance of free N-acetylneurameric acid as tumour marker. *Clin Chim Acta* 1995; 243(2): 165-79.
- [13] Erbil KM, Sen SE, Zincke H, Jones JD. Significance of serum protein and lipid-bound sialic acid as a marker for genitourinary malignancies. *Cancer* 1986; 57(7): 1389-94.
- [14] Yogeeshwaran G, Salk PL. Metastatic potential is positively correlated with cell surface sialylation of cultured murine cell lines. *Science* 1981; 212(4502): 1514-6.
- [15] Schauer R. Achievements and challenges of sialic acid research: *Glycoconj J* 2000; 17(7-9): 485-99.
- [16] Raval GN, Patel DD, Parekh LJ, Patel JB, Shah MH, Patel PS. Evaluation of serum sialic acid, sialyltransferase and sialoproteins in oral cavity cancer. *Oral Dis* 2003; 9(3): 119-28.
- [17] Plucinsky MC, Riley WM, Prorok JJ, Alhadef JA. Total and lipid-associated serum sialic acid levels in cancer patients with different primary sites and differing degrees of metastatic involvement. *Cancer* 1986; 58(12): 2680-5.
- [18] Konukoğlu D, Akçay T, Celik C, Erözenci A. Urinary excretion of sialic acid in patients with bladder tumors. *Cancer Lett* 1995; 94(1): 97-100.
- [19] Honglertsakul C, Opanuraks J, Kittikowit W, Boonla C, Wunsuwan R, Tosukhowong P. Increased Urinary Excretions of Oxidative Stress Biomarkers and Sialic Acid Associated with Severity of Bladder Tumors. *Thai J Surgery* 2007; 28: 133-7.
- [20] Shimada I, Shoji M, Futu-suya R, Katoh T, Kominato Y, Sakamoto T, et al. Elevation of ratio of urinary N-acetylNeuraminolactose to free sialic acids in some advanced cancer patients. *J Gastroenterol* 1995; 30(1): 21-7.
- [21] Rajpura KB, Patel PS, Chawda JG, Shah RM. Clinical significance of total and lipid bound sialic acid levels in oral pre-cancerous conditions and oral cancer. *J Oral Pathol Med* 2005; 34(5): 263-7.
- [22] Yamamoto H, Kaneko Y, Vandermulan D, Kersey D, Mkrdichian E, Leestma J, et al. The expression of CMPNeUAc: Gal beta 1, 4 GlcNAc, alpha 2,6 sialyltransferase (E.C 2.4.99.1) the glycoprotein bearing alpha 2,6-linked sialic acids in human brain tumours. *Glycoconjugate J* 1995; 12(6): 848-56.
- [23] Drinnan NB, Halliday J, Ramsdale T. Inhibitors of sialyltransferases: potential roles in tumor growth and metastasis. *Mini Rev Med Chem* 2003; 3(6): 501-17.
- [24] Sillanaukee P, Pönniö M, Jääskeläinen IP. Occurrence of sialic acids in healthy humans and different disorders. *Eur J Clin Invest* 1999; 29(5): 413-25.
- [25] Peng-Hui Wang. Altered Glycosylation in Cancer. Sialic Acids and Sialyltransferases. *J Cancer Mol* 2005; 1(2): 73-81.
- [26] Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. Campbell-Walsh Urology. 6<sup>th</sup> ed. W.B Sanders: New York: 2007.